

에탄올 공급이 흰쥐 조직중의 Glutathione 및 지질산화 수준에 미치는 영향

이정원

충남대학교 가정교육과

Effects of Ethanol Administration on Glutathione and Lipid Peroxide Levels in Rat Liver and Cerebellum

Joung-Won Lee

Dept. of Home Economics Education, Chungnam National University, Daejon 305-764, Korea

Abstract

The effects of acute and chronic ethanol administration on hepatic and cerebellar glutathione (GSH) statuses and lipid peroxide levels in rats were investigated. In the liver, chronic ethanol feeding (6.9 g/kg, per day) as 10% (v/v) drinking water for 4 weeks produced a slight decrease of total GSH and an increase in the ratio of GSSG/total GSH without change of GSSG (oxidized GSH). Lipid peroxide level however was not modified. Many other studies have shown the acute ethanol loading effect in the rat liver, that is, moderate decrease of total GSH and elevation of lipid peroxide level. Relating to this, it was observed that total GSH in the plasma obtained from post-hepatic inferior vena cava was increased by acute ethanol injection (50 mmol/kg, i.p.). This increased hepatic efflux of GSH into blood, in addition to the promoted antioxidative utilization of GSH, could be suggested as one of the possible reasons for the decrease of hepatic GSH induced by ethanol load. In the cerebellum, acute ethanol load did not change the total GSH and GSSG, but increased the lipid peroxidation rate. In the chronic, neither GSH pattern nor lipid peroxidation rate was changed.

Key words : ethanol, glutathione (total and oxidized), lipid peroxidation

서 론

지질과산화 반응은 여러가지 독성화합물이나 약물에 의한 간손상 발생의 가장 중요한 기전으로서 인정되어지고 있다¹⁾. 이러한 기전은 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 자유래디칼 생성의 증가 및(또는) 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기될 것이다. 에탄

올의 대사와 독성에서도 지질과산화 반응의 역할은 아직도 논란의 문제이지만 많은 연구들이 에탄올에 의한 지질과산화 반응의 증가를 보고하고 있다. 에탄올을 투여한 실험동물과^{2~4)} 알콜중독인 사람에게서⁵⁾ 간조직의 지질과산화 수준이 현저히 증가되었으며, 이러한 증가는 간이외의 조직에서도 나타남이 보고되었다. Rouach 등은⁶⁾ 급성적 에탄올 공급 후 흰쥐의 소뇌(cerebellum)에서 지질과산화 수준의 증가와 함

께 뇌의 주된 항산화제인 비타민 E 및 비타민 C의 감소를 보고한 바 있다.

동물조직 중 nonprotein thiols 의 대부분을 차지하는 glutathione(GSH)도 자유래디칼의 scavenger로서, 또한 H₂O₂ 및 과산화지질을 대사시키는 glutathione peroxidase의 기질이 됨으로써, 세포내 항산화제들 중에서도 가장 중요한 역할을 담당하고 있다. 에탄올의 급성중독시 간조직내의 GSH농도가 감소함은 잘 알려져 있으며^{7~9)}, GSH저하와 지질과산화반응과의 관련성도 제시되고 있다³⁾. 그러나, 만성적인 에탄올 중독의 경우엔 지질과산화 및 GSH농도의 변화에 대해서는 전혀 상반되는 결과들이 보고되고 있다^{4,10~12)}. 만성적 에탄올 독성이 지질과산화 반응에 영향을 미친다는 보고도 있고^{4,10,11)}, 그렇지 않다는 보고도 있으며^{12~14)}, 마찬가지로 흰쥐 간조직내 GSH수준에 미치는 만성적인 에탄올 공급의 영향도 증가시킨다^{15,16)}, 감소시킨다^{17,18)}, 또는 변화시키지 않는다^{12,19)}라고 일관성없이 관찰 보고되고 있다^{4,10~12)}. 또한 다른조직(혈액이나 뇌)중의 GSH상태의 변화에 에탄올이 미치는 영향에 대해서는 별로 보고되어 있지 않다. 또한 환원형 GSH뿐만 아니라 산화형 GSH (즉, GSH disulfide, GSSG), 또는 GSSG/GSH비율의 측정은 조직세포내의 redox 및 detoxification상태의 정확한 평가를 위해서 필수적이지만 대부분 조직에 매우 낮은 농도로 존재하기 때문에 그 측정이 무척 곤란한 실정이다. 그럼에도 불구하고 최근 GSSG의 형성은 *in vivo* 활성형 산소 생성의 유용한 정량적 지표가 되며²⁰, 따라서 지질과산화정도 내지 조직손상의 유발과 직접적으로 관련되어 있을 가능성을 들어 그에 대한 평가가 활발해지고 있다^{19,21)}. 그리하여 본 연구에서는 흰쥐에게 에탄올을 급성적 및 만성적으로 투여 했을 때 간 및 소뇌증의 지질과산화 수준과 GSH, GSSG의 수준에 미치는 영향을 검토하여, 에탄올 중독현상의 기전 추적에 어떤 부가적인 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

에탄올투여 및 시료채취

실험동물로는 체중 180~220 g의 숫컷 Sprague-Dawley 흰쥐를 사용하였다.

급성적으로는 체중 kg 당 50 mmol의 에탄올(Prola-

bo, Sigma)을 20% (v/v) 수용액으로 하여 16-18시간 절식시킨 흰쥐에게 1회 복강내 주사하였고, 조절군에게는 동량의 saline을 주사하였다. 에탄올 투여한지 4시간 후 동물들을 회생시켜 시료를 채취하였다. 만성적으로는 에탄올을 마시는 물에 10% (v/v)로 혼합하여 체중 80~120g의 흰쥐에게 4주동안 공급하였다. 물과 표준고형사료는 자유로이 주었으며, 이때의 하루 에탄올 섭취량은 6~9g/kg 이었고 체중증가량은 조절군과 유의적인 차이가 없었다. 사육실은 12시간 명암주기, 20~26°C, 40~60%습도를 유지하였다. 4주후에 16~18시간 절식시킨 다음 동물들을 회생시켰다.

혈액은 동물을 phenobarbital로 마취시킨 (50mg/kg, i. p.) 직후 간 상부의 inferior vena cava로부터 EDTA(5mM)를 항응고제로 하여 채취, 즉시 분석에 사용하였고, 간(좌엽) 및 소뇌는 혈액 채취후이거나 또는 직접 단두시킨 다음 즉시 적출, 세척, 흡습하여 액체 질소에서 급냉동, -70°C에 분석시까지 저장하였다.

지질과산화 수준의 측정

간 조직은 냉장된 0.15M KCl 용액으로 마쇄한 다음(10%, w/v), Mihara 등²²⁾의 방법으로 thiobarbituric acid 반응률질(TBARS)을 측정하였다. 소뇌는 sodium phosphate buffer (20mM, pH 7.4)로 써 2.5% (w/v) 마쇄액으로 만들고 원심분리한 다음 (1000×g, 10분), 상등액을 공기중에서 첨가물이 전혀없이 37°C의 전탕수조에서 30분간 가열하였다. 가열도중 매 5분마다 일정량씩 취하고 TBARS를 정량함으로써 지질과산화율(lipid peroxidation rate)을 측정하였다. 소뇌조직 중의 단백질 함량은 Lowry 등의 방법²³⁾으로 실시하였다.

Glutathione의 측정

조직중의 총 glutathione (total GSH, 환원형GSH+GSSG) 및 산화형 glutathione (GSSG)은 Neuschwander-Tetri와 Roll²⁴⁾의 C₁₈ODS column을 사용한 high performance liquid chromatography(HPLC) 분석법을 일부 수정한 방법으로 정량하였다. Neuschwander-Tetri와 Roll의 측정법은 그 적용과정에 있어 두 가지 문제점이 있음이 발견되었다. 즉 시료중의 GSH와 orthophthalaldehyde(OPA)와의 반응혼합용액중에

“미지의 nonpolar물질”이 존재하여 HPLC에 나타나기 때문에 매 5~6개의 시료주입후 column을 1시간 30분씩 washing-equilibration시켜야만 하였다. 이 과정은 분석법의 재현성을 낮추고, 다량 시료의 분석시간이 요구되어 실용화를 매우 곤란하게 한다. 또한 조직중의 GSSG정량시에는 GSH와 OPA의 반응 혼합용액을 HPLC에 주입시키는 시간이 지연됨에 따라 그 측정값이 계속 증가하여 측정의 신뢰성이 전혀 결여되어 있었다. GSSG의 정량을 위해서는 먼저 시료중의 환원형 GSH를 N-ethylmaleimide(NEM)과 결합시켜 제거한 다음 GSSG를 GSH로 환원시켜 GSH-OPA adduct를 만드는데 GSH와 OPA 사이의 결합이 시간이 지남에 따라 분해되고, 이때 생성된 GSH가 잔재한 OPA와 추가로 반응함으로서 GSSG측정값이 증가하는 것으로 추측되었다. 그런데, 본 실험실에서 “미지의 nonpolar물질”이 바로 OPA임을 확인한 바, GSH와 OPA의 반응혼합용액으로부터 반응하지 않고 남아있는 OPA를 sep-pak elution 통해 제거한 다음 HPLC에 주입시킴으로써 위의 두가지 문제를 함께 해결하게 되었다. 그리하여 분석과정에 다음과 같이 sep-pak elution단계를 삽입시켜 조직중 total GSH 및 GSSG 정량을 실시하였다. 즉 시료중의 GSH와 OPA 반응혼합용액을 phosphate buffer(100mM, pH 7.0)로 희석·중화시킨 다음, 1ml를 C₁₈ sep-pak(100mg, Analytichem International, USA)에 부하시킨후 (통과액은 버림) 1.2ml의 eluent(sodium acetate buffer, 0.15M, pH 7.0, 92.5% ; methanol 7.5%)를 통과시켜 sep-pak에 잔재했던 GSH-OPA adduct를 유출시켰다. 이때 반응하지 않고 남은 OPA는 유출되지 않으므로 분리 제거된다. 그후 유출액을 Neuschwander-Tetri와 Roll의 방법에 따라 HPLC에 주입하여 분리, 정량하였다. 이때의 eluting solvent는 7.5% methanol ; 92.5% 0.15 M sodium acetate buffer, pH 7.0이었으며, 분리된 GSH-OPA adduct는 형광법으로 excitation 340nm, emission 420nm에서 검출, 정량하였다. HPLC의 flow rate는 1ml/min이었으며, 이때 주입한 지 11분만에 GSH peak 가 나타난다.

동일한 시료의 sep-pak elution시킨 GSH-OPA반응 혼합용액을 HPLC에 반복주입하였을때 coefficients of variation이 0.47% (n=8)로 재현성이 높았으며, GSSG 정량시 GSH-OPA반응혼합용액을 sep-pak elution 시킨 유출액을 냉장고에서 overnight 시켜도 그 정량값은 변함이 없었다.

이상의 수정방법으로 실시한 GSH의 recovery는 소뇌 마쇄액 및 혈장에 첨가한 경우 각각 99.9±6.9%, 104.0±6.0%이었다.

GSH측정을 위해 간 및 소뇌는 2mM EDTA를 함유하는 25mM sodium phosphate buffer, pH 6.0으로 분석직전에 마쇄액(total GSH, 0.5%; GSSG, 10%)으로 만들고 혈액은 채취 즉시 냉장원심분리로(10000×g, 2분) 혈장을 얻은 후, 자체없이 GSH측정에 사용되었다.

통계처리

측정값들은 모두 mean±SE이며 통계적 유의성은 Student's t-test(two-tailed)로 검증하였다.

결과 및 고찰

만성적 에탄올 공급이 간 조직중의 지질과산화, glutathione (GSH) 수준에 미치는 영향

만성적인 에탄올 섭취가 흰쥐 조직중의 지질과산화 반응과 GSH 수준에 미치는 영향은 그에 대한 연구 결과들이 상반되고 있을 뿐만 아니라, 에탄올 중독시간 조직중 GSH와 지질과산화 반응사이의 관계도 아직 분명하지 않다. 그렇지만 흰쥐의 급성 중독시에는 GSH감소와 지질과산화 수준의 증가현상이 상당히 많이 보고되고 있으며^{2,3)}, 약물을 이용한 의도적인 간 조직내 GSH의 고갈은 지질과산화를 극적으로 증가시킨다는 연구결과도 있다⁴⁾. 그러므로 GSH감소현상만으로 에탄올에 의한 자질과산화 반응의 야기를 단정할 수는 없지만 그러한 현상의 가능성은 제시할 수 있을 것이다.

흰쥐에게 4주간 에탄올을 만성적으로 공급한 결과 간 조직 중의 지질과산화물(TBARS) 수준은 Table 1에서와 같이 조절군과 비교하여 유의적인 차이가 없었다. 그러나, GSH함량에는 변화를 보였다(Table 1). 조절군에 비해 total GSH가 14.5%감소되었다($p<0.05$). 또한 GSSG/total GSH비율이 증가하였는데 ($p<0.05$), 이 비율의 증가는 GSSG는 변화하지 않았으므로 total GSH의 유의적 감소때문이라고 하겠다. 이 결과를 본 연구와 동일한 실험조건에서 수행된 다른 연구논문에서 이미 보고된 바 있는 급성적 에탄올 중독인 경우와 비교하여 본다면 급성적으로는 81.3%의 상당한 증가⁵⁾를 보였던 지질과산화 수준이 만성적 공

Table 1. Effects of chronic ethanol administration on lipid peroxides and glutathione levels in rat liver

TBARS value (n = 10) (nmol MDA/g wet wt)		Glutathione (n = 7)		
	Total GSH (μ mol/g wet wt)	GSSG (μ mol/g wet wt)	GSSG / Total GSH (%)	
Ethanol	91 ± 11	5.57 ± 0.62*	0.149 ± 0.014	2.69 ± 0.31*
Control	86 ± 6	6.52 ± 0.74	0.154 ± 0.019	2.36 ± 0.18

Total GSH and GSSG were expressed as GSH equivalents

* p<0.05 comparing to the control

급시에는 변화를 나타내지 않았다. 그리고 간 조직내 total GSH의 감소정도가 급성인 경우 31.5%이던 것 이²⁵ 만성화 될 때는 이보다 적어졌음을 알 수 있다. 이렇게 차이가 나는 것은 에탄을 공급이 만성화 됨에 따른 생체의 적응에 의한 변화로서 간주될 수 있겠다. 따라서 만성적인 GSH의 항산화적 소모로 인해 GSH농도가 약간 저하하였으며 그 결과로서 지질과 산화 반응이 억제될 수 있었다고 추정해 볼 수 있다. 다시 말하면 만성적 에탄을 중독시에도 지질과 산화 수준에는 변화가 없었지만 산화적 스트레스가 증가하였다고 하겠다. 간 조직내 GSH의 약간의 감소는 GSH가 자유 래디칼의 직접적인 scavenger로서, 또는 H₂O₂ 및 lipoperoxides로부터 세포를 보호하기 위해 glutathione peroxidase의 기질로서 그리고 단백질의 -SH기를 환원 상태로 유지하기 위해 thiol transferase의 기질로서 더욱 소모되었음을 반영한 것으로 생각할 수 있다. 한편 만성적인 에탄을 투여시 glutathione peroxidase¹⁶ 및 glutathione transferase^{16, 19}의 활성이 증가되었음이 보고되고 있는데 이는 적응효과를 의미한다.

그러나 GSH의 항산화적 소모의 결과로 생성된 GSSG 농도가 본 실험에서 변화하지 않았는데 다른 연구 결과⁹도 같은 경향을 보였다. 아마도 생성된 GSSG의 담즙이나 혈액으로의 계속적인 유출때문일 가능성도 있으며²⁷, 또한 GSSG의 GSH로의 환원 증가도 의심할 수 있다. 만성적 에탄을 투여시 담즙을 통한 GSSG의 배설의 증가와⁴ glutathione reductase 활성의 증가⁷ 보고되고 있기 때문이다.

급성적 에탄을 투여에 따른 혈장 GSH 농도의 변화

간 조직중의 GSH의 감소현상과 관련하여 혈액중 GSH 농도의 변화를 알아보고자 에탄을 한번의 복강내 주사로 급성적으로 투여한 후 혈액을 posthepatic

Table 2. Effects of acute ethanol administration on glutathione levels in rat plasma collected from inferior vena cava above liver

Total GSH(μ M)	
Ethanol (n = 11)	29.8 ± 9.5*
Control (n = 12)	22.7 ± 5.2

Total GSH were expressed as GSH equivalents

* p<0.05 comparing to the control

inferior vena cava에서 hepatic outflow를 직접 채취, total GSH를 측정하였다. 그 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 혈장 중의 total GSH 농도가 현저히 31.3% 증가하였다(p<0.05). 에탄을 중독에 의한 간 조직중 GSH의 감소에 대한 가능한 기전으로서는 이미 전술한 (i) 항산화적 작용으로의 소모 이외에도, (ii) acetaldehyde와의 GSH결합²⁶ (iii) GSH의 간 내 합성의 저해²⁸ (iv) 담즙으로의 배설증가¹ (v) 혈액으로의 유출 증가²⁷ 등이 제시되고 있다. 본 실험에서 관찰된 급성적 에탄을 투여에 의한 간에서 혈액으로의 GSH 유출의 증가 현상은 Speisky 등²⁹ 및 Gonzalez⁸ 등과 Vendemiale 등²¹ (사람의 경우)의 결과와 일치하는 것으로서 급성은 물론 만성적 에탄을 중독시 나타난(Table 1) 간 조직중 GSH 감소의 한 원인으로 간주될 수 있을 것이다. 실제로 Pierson과 Mitchell³⁰은 만성적으로 에탄을 중독된 흰쥐에서 분리해낸 간으로부터 GSH의 sinusoidal efflux가 상승하였음을 보고하였다. 몇몇 연구들^{27, 31, 32}은 GSH 및 GSSG는 연속적으로 간으로부터 또는 간 이외의 기관으로부터도 혈액이나 담즙으로 방출되며 간에서의 GSH turnover는 주로 혈액으로의 유출(effluence)에 기인한다고 보고하고 있다. 급성적 에탄을 공급에 따른 혈장중 total GSH의 증가는 sinusoidal efflux rate의 증가에 의한 간으로부터의 손실 이외에 몇 가지 다른 기전들의 결과일 수도 있다. 즉 liver blood flow의 증가에 의한 간으로부터 GSH의 세척(washout) 효과

증가³³⁾, 간 이외의 조직, 특히 적혈구로부터의 GSH 방출³⁴⁾ 등이 제시되고 있다. 본 실험이 구체적인 기전에 대한 연구는 아니지만 증가된 간으로부터의 손실이 가장 클 것으로 생각된다. 급성적 에탄을 중독이 혈장중 GSH의 증가와 함께, 물론 동시적으로 관찰된 것은 아니지만 본 실험조건과 동일하게 처치했을 때 간 조직 중 GSH의 감소도 초래하였기 때문이다²⁾. 본 실험에서는 혈액을 간 상부의 inferior vena cava에서 hepatic outflow를 직접 채취한 셈이므로 GSH 농도의 상승과 적혈구를 포함한 간 이외의 조직으로부터의 GSH 방출과의 관련성은 배제될 수 있다. 한편 에탄을 투여에 의한 간 GSH의 혈액으로의 손실이 증가하는 이유로서 여러가지가 의심되고 있다. 최근 제시된 내분비의 변화가 가능성성이 크고 흥미롭다⁷⁾. 즉 다량의 에탄을 중독은 adrenaline, corticoids, glucagon 등의 방출을 증가시키는데, 이들 홀몬의 투여는 간 GSH 농도의 감소를 야기시키고 특히 adrenaline은 간의 sinusoidal efflux를 증가시킴이 관찰 보고된 바 있다³⁵⁾. 이외에도 에탄올의 세포막에 대한 직접적인 fluidization효과²¹⁾, GSH efflux에 관련된 것으로 여겨지고 있는 carrier protein의 생성 증가³⁶⁾, GSH 운반에 대한 driving force의 변화등도 고려할 수 있는 점들이다.

급성 및 만성적 에탄을 투여가 소뇌중의 지질과 산화, GSH 수준에 미치는 영향

근래에 에탄올이 지질과산화에 미치는 영향은 간 이외의 조직에서도 나타남이 제시되고 있다. 뇌조직은 지질과산화에 의한 손상을 쉽게 받을 수 있는 특성을 가지고 있다³⁷⁾. 즉 산소 소모량이 높고 산화 되기 쉬운 불포화 지방산 및 catecholamines 함량이 많은 반면 catalase 및 glutathione peroxidase 등 세포내 항산화기전들의 활성이 다른 조직에 비해 낮다. 특히 소뇌는 다른 어느 부위보다도 H₂O₂생성 및 지질과산화 수준이 높고, α -tocopherol함량은 낮아서 산화적 스트레스를 쉽게 받는 것으로 제시되고 있다⁶⁾. 그러나 뇌조직에 미치는 에탄올의 영향에 대한 연구는 많지 않다. 본 실험에서 급성적으로 에탄올을 공급한 경우 Table 3에서와 같이 소뇌의 lipid peroxidation rate는 조절군에 비해 28.0%의 유의적인 증가를 보였다. 이것은 동일한 실험조건에서 실시된 Rouach 등의 연구보고^{6,37)}와 일치하며, 소뇌를 제외한 전체 뇌를 대상으로 분석한 Uysal 등¹⁵⁾도 같은 경향을 보고하고 있다. 그러나 Di Luzio와 Hartman³⁸⁾은 급성적 에탄을 투여가 뇌의 과산화지질 수준에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 소뇌 중의 total GSH, GSSG, 따라서 GSSG/total GSH 비율은 급성적 에탄을 투여에 의해 전혀 변동이 없었다(Table 3).

Table 3. Effects of acute ethanol administration on lipid peroxidation rate and glutathione levels in rat cerebellum

Lipid peroxidation rate (n = 10) (nmol MDA/min/g protein)		Glutathione (n = 6)		
		Total GSH (μ mol/g wet wt)	GSSG (μ mol/g wet wt)	GSSG / Total GSH (%)
Ethanol	105 \pm 17**	1.25 \pm 0.14	61.6 \pm 15.7	5.00 \pm 1.43
Control	82 \pm 8	1.31 \pm 0.09	61.3 \pm 15.6	4.67 \pm 1.14

Total GSH and GSSG were expressed as GSH equivalents

** p<0.01 comparing to the control

Table 4. Effects of chronic ethanol administration on lipid peroxidation rate and glutathione levels in rat cerebellum

Lipid peroxidation rate (n = 10) (nmol MDA/min/g protein)		Glutathione (n = 8)		
		Total GSH (μ mol/g wet wt)	GSSG (μ mol/g wet wt)	GSSG / Total GSH (%)
Ethanol	97 \pm 20	1.51 \pm 0.19	41.4 \pm 8.0	2.75 \pm 0.15
Control	98 \pm 15	1.61 \pm 0.15	42.9 \pm 7.5	2.66 \pm 0.11

Total GSH and GSSG were expressed as GSH equivalents

Rouach 등^{6,37)}은 지질과산화의 증가와 함께 소뇌중의 α -tocopherol 및 ascorbic acid 농도가 급성적 에탄을 부하에 따라 유의적으로 감소하였음을 보고하고 있다. GSH는 α -tocopherol 및 ascorbic acid와 함께 뇌 신경계에서 중요한 항산화제로서 작용한다. 이러한 점들을 고려할 때 소뇌의 환원형 GSH가 지질과산화에 대한 항산화적 작용으로 GSSG로 산화되었다 해도 GSH reductase 등에 의한 GSSG의 GSH로의 재생이 효과적으로 일어날 수 있음을 간접적으로나마 추측해볼 수 있겠다.

만성적으로 에탄을 투여한 경우 lipid peroxidation rate는 조절군과 비교할 때 유의적인 변동이 없었다(Table 4). 소뇌 조직중의 total GSH, GSSG, 그리고 GSSG/total GSH 비율도 변화를 보이지 않았다. 지질과산화 변동이 급성인 경우와 다른 것은 에탄을 공급에 따른 조직의 적응의 결과로 볼 수 있겠다. Uysal 등^{15,17)}도 만성적인 경우 지질과산화 및 total GSH 수준이 모두 변화가 없었음을 보고하고 있다. 그러나 본 실험 결과와는 달리 뇌의 GSH 수준이 급성 및 만성적 에탄을 중독에서 모두 감소하였음을 관찰되고 있고¹⁸⁾, superoxide dismutase 활성도 저하하였음이 보고 되었다¹⁵⁾. 이러한 차이는 투여하는 에탄을의 양등 실험조건이 다름으로써 나타날 수도 있다. 앞으로 연구가 더욱 진행되어져야 할 것이다.

요약

에탄을의 급성적 및 만성적 투여가 흰쥐의 간 및 소뇌 중의 glutathione(GSH) 양상과 지질과산화물 수준에 미치는 영향을 알아 본 결과는 다음과 같다. 간 조직에서는, 만성적 에탄을 투여(6~9g/kg, per day, 10% 음료수로서, 4주간)에 의해 총 GSH 농도가 14.5% 저하되었고, 산화형 GSH(GSSG)는 변화가 없었으며, 따라서 GSSG/총 GSH 비율은 증가하였다. 그러나 지질과산화 수준은 변함이 없었다. 급성적 에탄을 투여에 의해 간 조직 중 지질과산화 수준이 상승되고 총 GSH 농도가 감소함은 이미 보고 되고 있다. 본 실험에서는 이와 관련시켜 급성적 에탄을 투여(50mmole/kg, i. p.) 후 post-hepatic 혈장 중의 총 GSH 수준을 측정한 결과 현저히 상승하였다. 이러한 GSH의 간에서 혈액으로의 유출은, GSH의 항산화적 소모 이외에도, 급성적 그리고 아마도 만성적인

에탄을 투여에 의한 간 조직 중의 총 GSH의 감소의 한 가능한 원인으로서 간접적으로나마 추정될 수 있겠다. 소뇌에서는 급성적 에탄을 투여는 지질과산화 수준을 증가시켰으나 GSH 양상은 변화시키지 않았으며, 만성적인 경우엔 모두 변동시키지 못하였다.

감사의 글

이 연구의 많은 부분은 프랑스, 파리 5대학교 의학부 알콜리즘 생의학연구실에서 수행되었으며, 이에 저자는 Nordmann, R. 교수와 Rouach, H. 교수에게 감사드리는 바이다.

문현

- Plaa, G. L. and Witschi, H. : Chemicals, drugs, and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 16, 125 (1976)
- Rouch, H., Park, M. K., Orfanelli, M. T., Janvier, B., Brissot, P., Bourel, M. and Nordmann, R. : Effects of ethanol on hepatic and cerebellar lipid peroxidation and endogenous antioxidants in naive and chronic iron overloaded rats. *Adv. Biosci.*, 71, 49 (1988)
- Videla, L. A., Fernandez, V., Ugarte, G. and Valenzuela, A. : Effect of acute ethanol intoxication on the content of glutathione of the liver in relation to its lipoperoxidative capacity in the rat. *FEBS Lett.*, 111, 6 (1980)
- Sies, H., Koch, O. R., Martino, E. and Boveris, A. : Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. *FEBS Lett.*, 103, 287 (1979)
- Shaw, S., Rubin, K. P. and Lieber, C. S. : Depressed hepatic glutathione and increased diene conjugates in alcoholic liver disease. *Digest. Dis. Sci.*, 28, 585 (1983)
- Rouach, H., Ribiere, C., Park, M. K., Saffar, C. and Nordmann, R. : Lipid peroxidation and brain mitochondrial damage induced by ethanol. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 18, 211 (1987)
- Speisky, H., Kera, Y., Penttila, K. E., Israel, Y. and Lindros, K. O. : Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcol. Clin. Exp. Res.*, 12 (2), 224 (1988)
- Gonzalez, J., Munoz, M. E., Martin, M. A., Collado, P. S., Fermoso, J. and Esteller, A. : Influence of acute ethanol administration on he-

- patic glutathione metabolism in the rat. *Alcohol*, **5**, 103(1988)
9. Altomare, E., Vendemiale, G. and Albano, O. : Hepatic glutathione content in patients with alcoholic and nonalcoholic liver diseases. *Life Sci.*, **43**, 991(1988)
 10. Aykac, G., Uysal, M., Yalcin, S., Kocak-Toker, N., Sivas, A. and Oz, H. : The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol.*, **36**, 71(1985)
 11. Reitz, R. C. : A possible mechanism for the peroxidation of lipids due to chronic ethanol ingestion. *Biochem. Biophys. Acta*, **380**, 145(1975)
 12. Shaw, S., Jayatilleke, E., Ross, W. A., Gordon, E. R. and Liebr, C. S. : Ethanol-induced lipid peroxidation: Potentiation by long-term alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.*, **98**, 417(1981)
 13. Torrielli, M. V., Gabriel, L. and Dianzani, M. U. : Ethanol-induced hepatotoxicity; experimental observations on the role of lipid peroxidation. *J. Pathol.*, **126**, 11(1978)
 14. Litov, R. E., Gee, D. L., Downey, J. E. and Tappel, A. L. : The role of lipid peroxidation during chronic and acute exposure to ethanol as determined by pentane expiration in the rat. *Lipids*, **16**, 52(1981)
 15. Uysal, M., Kutalp, G., Ozdemirler, G. and Aykac, G. : Ethanol-induced changes in lipid peroxidation and glutathione content in rat brain. *Drug Alcohol Dep.*, **23**, 237(1989)
 16. Hassing, J. M., Hupka, A. L., Stohs, S. J. and Yoon, P. C. : Hepatic glutathione levels in D-penicillamine-fed ethanol-dependent rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **25**, 389(1979)
 17. Uysal, M., Keyer-Uysal, M., Kocak-Tiker, N. and Aykac, G. : The effect of chronic ethanol ingestion on brain lipid peroxide and glutathione levels in rats. *Drug Alcohol Dep.*, **18**, 73(1986)
 18. Guerri, C. and Grisola, S. : Changes in glutathione in acute and chronic alcohol intoxication. *Pharmacol. Biochem.*, **13**, suppl. 1, 53(1980)
 19. Callans, D. J., Wacker, L. S. and Mitchell, M. C. : Effect of ethanol feeding and withdrawal on plasma glutathione elimination in the rat. *Hepatol.*, **7**(3), 496(1987)
 20. Smith, C. V., Hughes, H., Lauterburg, B. H. and Mitchell, J. R. : Oxidant stress and hepatic necrosis in rats treated with diquat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **235**, 172(1985)
 21. Vendemiale, G., Altomare, E., Grattagliano, I. and Albano, O. : Increased plasma levels of glutathione and malondialdehyde after acute ethanol ingestion in humans. *J. Hepatol.*, **9**, 359(1989)
 22. Mihara, M., Uchiyama, M. and Fukuzawa, K. : Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication, and vitamin E deficiency. *Biochem. Med.*, **23**, 302(1980)
 23. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
 24. Neuschwander-Tetri, B. A. and Roll, F. J. : Glutathione measurement by high performance liquid chromatography separation and fluorometric detection of the glutathione-orthophthalaldehyde adduct. *Anal. Biochem.*, **179**, 236(1989)
 25. Younes, M. and Siegers, C. P. : Formation of ethane in vivo by rat liver homogenates following glutathione depletion in vivo. *Toxicol. Lett.*, **15**, 213(1983)
 26. Antebi, H., Ribiere, C., Sinaceur, J., Abu-Murad, C. and Nordmann, R. : Involvement of oxygen radicals in ethanol oxidation and in the ethanol-induced decrease in liver glutathione. In "Oxygen radicals in chemistry and biology," Bors, W., Saran, M. and Tait, D. (eds.), De Guyter, Berlin, p. 757(1984)
 27. Adams, Jr., J. D., Lauterburg, B. H. and Mitchell, J. R. : Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: Regulation and response to oxidative stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **227**(3), 749(1983)
 28. Vina, J., Estrella, J. M., Guerri, C. and Romero, F. J. : Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes. *Biochem. J.*, **188**, 549(1980)
 29. Speisky, H., MacDonald, A., Giles, G., Orrego, H. and Israel, Y. : Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute ethanol administration. *Biochem. J.*, **225**, 565(1985)
 30. Pierson, J. L. and Mitchell, M. C. : Increased hepatic efflux of glutathione after chronic ethanol feeding. *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 1533(1986)
 31. Griffith, O. W. and Meister, A. : Translocation of intracellular glutathione to membrane-bound gamma-glutamyl transpeptidase as a discrete step in the gamma-glutamyl cycle: glutathionuria after inhibition of transpeptidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 268(1979)
 32. Bartoli, G. M. and Sies, H. : Reduced and oxidized glutathione efflux from liver. *FEBS Lett.*, **86**, 89(1978)
 33. Israel, Y., MacDonald, A. and Orrego, H. : Contribution of portal and arterial flow to the increase in liver blood flow induced by acute

- ethanol administration. *Gastroenterol.*, **84**, 1377 (1983)
34. Fernandez, V., Fernandez, N., Valenzuela, A. and Videla, L. A. : Time course study of the changes in blood glutathione induced by acute ethanol intoxication in the rat. *Experimentia*, **39**, 880(1983)
35. Sies, H. and Graf, P. : Hepatic thiol and glutathione efflux under the influence of vasopressin, phenylephrine and adrenaline. *Biochem. J.*, **226**, 545(1985)
36. Fernandez-Checa, J. C., Ookhtens, M. and Koplowitz, N. : Effect of chronic ethanol feeding on rat hepatocytic glutathione. *J. Clin. Invest.*, **80**, 57(1987)
37. Rouach, H., Orfanelli, M. T., Janvier, B. and Nordmann, R. : Lipid peroxidation in cerebellum of rats acutely treated with ethanol. In "Superoxide and superoxide dismutase in chemistry, biology and medicine", Rotilio, B. (ed.), Elsevier, Amsterdam, p. 676(1986)
38. Di Luzio, N. R. and Hartman, A. D. : Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of ethanol-induced fatty liver. *Fed. Proc.*, **26**, 1436(1967)

(1991년 6월 7일 접수)